

## • 临床检验研究论著 •

## HBV-LP 检测在慢性乙型肝炎患者抗病毒治疗中的应用

巫开文<sup>1</sup>, 李国春<sup>1</sup>, 周镇先<sup>2△</sup>, 夏敦年<sup>2</sup>

(1. 江苏省南京市市级机关医院检验科 210018; 2. 江苏省南京市第二医院检验科 210003)

**摘要:**目的 探讨乙型肝炎病毒外膜大蛋白(HBV-LP)检测在慢性乙型肝炎患者抗病毒治疗中的应用价值。方法 对抗病毒治疗有效并-70℃冻存的 56 例慢性乙型肝炎患者系列血清做 HBV-LP、雅培(ABBOTT)乙型肝炎两对半和 HBV DNA 定量检测。结果 在 56 例抗病毒治疗有效病例中, HBeAg 阳性组的 HBV-LP 的 A 值为  $1.11 \pm 0.40$ , 阴性组的 A 值  $0.5616 \pm 0.21$ , 差异有统计学意义。56 例干扰素治疗有效病例的 HBV-LP 和 HBV DNA 随用药时间的同时下降, 两者有很好的相关性,  $P = 0.0232, r^2 = 0.8603$ 。结论 HBV-LP 可作为判断慢性乙型肝炎抗病毒较为可靠的指标, 尤其在 HBeAg 阴性的乙型肝炎患者进行抗病毒治疗时更具有重大意义。

**关键词:**肝炎, 乙型; 外膜大蛋白; DNA, 病毒; 血清标志物

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.13.008

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2012)13-1556-03

## Value of HBV-LP in patients with chronic hepatitis B receiving antivirus treatment

Wu Kaiwen<sup>1</sup>, Li Guochun<sup>1</sup>, Zhou Zhenxian<sup>2</sup>, Xia Dunnian<sup>2</sup>

(1. Nanjing Governmental Hospital, Nanjing, Jiangsu 210018, China; 2. The Second Hospital of Nanjing City, Nanjing, Jiangsu 210003, China)

**Abstract: Objective** To investigate the clinical value of hepatitis B virus-large surface protein(HBV-LP) in patients with chronic hepatitis B(CHB) receiving antivirus treatment. **Methods** Serum samples, frozen at -70℃ and detected from 56 cases of patients with CHB receiving valid antivirus treatment, were detected for HBV-LP, HBV surface antigen(HBsAg), HBV surface antibody(HBsAb), HBV e antigen(HBeAg), HBV e antibody(HBeAb), HBV core antibody(HBcAb), and HBV DNA. **Results** The mean of A value of HBV-LP in HBeAg positive group was higher than HBeAg negative group( $1.11 \pm 0.40$  vs  $0.5616 \pm 0.21$ ,  $P < 0.05$ ). Level of HBV-LP and HBV DNA decreased after antivirus treatment. Level of HBV-LP was positively correlated with HBV DNA( $r^2 = 0.8603, P < 0.05$ ). **Conclusion** HBV-LP might be useful for evaluating the efficacy of antivirus treatment for CHB, especially in patients negative with HBeAg.

**Key words:** hepatitis B; large surface protein; DNA, virus; serum marker

乙型肝炎病毒(HBV)感染是中国高发性感染疾病之一, 严重地威胁着人们的生命健康, 人群中 HBsAg 携带率为 9.09%。全球约 6% 的人口为慢性 HBV 感染, 而中国慢性 HBV 感染者则约占全世界的 1/3。血清 HBeAg、抗-HBe 和 HBV DNA 是目前抗病毒治疗过程中疗效评价的最重要指标<sup>[1]</sup>。随着抗病毒药物的大量使用, 在慢性乙型肝炎患者中, HBV DNA 突变率增多, HBeAg 阴性的肝炎活动增多, 导致临幊上对慢性乙型肝炎患者的抗病毒疗效监测缺乏准确性<sup>[2-3]</sup>。本文将研究 HBV-LP 作为一种新的血清学指标与乙型肝炎病毒标志物(HBV M)和 HBV DNA 进行比较, 探讨 HBV-LP 检测在慢性乙型肝炎抗病毒治疗中的实际临床意义。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 56 例乙型肝炎患者血清均来自南京市市级机关医院和南京市第二医院 2009 年 8~12 月门诊及住院患者, 男 36 例, 女 20 例; 年龄 15~62 岁, 平均年龄 31.2 岁, 诊断依据中华医学会 2000 年(北京)病毒性肝炎会议制定的标准<sup>[4]</sup>。

**1.2 分组** 56 例抗病毒治疗患者系列血清进行分组(HBeAg 阳性组 40 例, HBeAg 阴性组 16 例)测定。

**1.3 仪器** ARCHITECT i2000 SR 化学发光仪(美国 ABBOTT 公司); BIO-RAD Model 680 酶标仪(美国 BIO-RAD 公

司); PE Gene Amp 7300 荧光定量 PCR 扩增仪(美国 ABI 公司)。

## 1.4 方法与结果判定

**1.4.1** HBV-LP 试剂由北京热景生物技术有限公司提供, 采用 ELISA 法, 通过酶免分析仪测定结果, 临界值(cut off)计算: 临界值=阴性对照孔 A 值  $N_c \times 2.1$ (阴性对照孔 A 平均值低于 0.05 者按 0.05 计算); 样品 A 值大于或等于临界值(cut off)者判为阳性; 样品 A 值小于临界值(cut off)者判为阴性。

**1.4.2** HBV DNA 荧光定量试剂由上海科华生物技术有限公司提供, 采用实时定量 PCR 方法测定, 其含量大于 500 copy/mL 时判为阳性, 反之判为阴性。

**1.4.3** HBV M 试剂由美国 ABBOTT Laboratories 提供, 采用化学发光微粒子免疫分析法(CMIA)测定。

**1.5 统计学处理** 计量资料采用 Graph Pad Prismv5.0 进行 t 检验、相关性分析以及图表制作, 均值比较为 t 检验, 检验水准为  $\alpha = 0.05$ , 小于 0.05 认为差异有统计学意义。

## 2 结 果

**2.1** 治疗前 56 例慢性乙型肝炎患者 HBV M 主要模式的分布情况, 见表 1。表 1 结果显示, HBeAg 阳性组 40 例, 占 71.4%; HBeAg 阴性组 16 例, 占 28.6%。

**2.2** HBeAg 阳性组与阴性组中 HBV-LP 和 HBV DNA 分布情况,见表 2。结果显示,56 例慢性乙型肝炎患者血清中,HBV-LP 在 HBeAg 阳性组的阳性率为 100%,HBeAg 阴性组的阳性率为 87.5%。

表 1 HBV M 主要模式的分布

HBV M 模式	n
HBsAg/HBeAg/抗-HBc 阳性	40
HBsAg/抗-HBe/抗-HBc 阳性	12
HBsAg/抗-HBc 阳性	4
抗-HBc 阳性	0
合计	56

表 2 治疗前 56 例慢性乙型肝炎患者的 HBeAg 阳性组与阴性组血清 HBV-LP 分布情况

HBeAg	n	HBV-LP(n)	
		阳性	阴性
阳性	40	40	0
阴性	16	14	2
合计	56	54	2

**2.3** HBV-LP 的 A 值与 HBV DNA 定量间的关系 56 例慢性乙型肝炎患者血清中,随 HBV DNA 拷贝数指数级数增加,HBV-LP 阳性率亦逐渐增加,详见表 3。血清 HBV-LP 的 A 值与 HBV DNA 有良好的正相关性,  $r=0.94$ 。

表 3 56 例慢性乙型肝炎患者 HBV DNA 水平与血清 HBV-LP 的 A 值关系

HBV DNA 定量 (copy/mL)	n	HBV-LP ( $\bar{x} \pm s$ )	HBV-LP 阳性率(%)
$5 \times 10^2 \sim 10^4$	5	$0.428 \pm 0.387$ 0	8.9
$10^4 \sim 10^5$	12	$0.493 \pm 0.457$ 9	21.4
$10^5 \sim 10^6$	12	$0.636 \pm 0.547$ 3	21.4
$10^6 \sim 10^7$	13	$0.721 \pm 0.629$ 0	23.2
$10^7 \sim 10^8$	10	$0.930 \pm 0.685$ 2	17.9
$> 10^8$	4	$1.272 \pm 0.705$ 6	7.2
合计	56	—	100

—: 无数据。

**2.4** 对 56 例进行抗病毒治疗前的 HBV-LP 测定,HBeAg 阳性组 40 例,阴性组 16 例,两组 HBV-LP 的 A 值比较,详见图 1。HBeAg 阳性组的 HBV-LP 与 HBeAg 阴性组的 HBV-LP, HBeAg 阳性组的 HBV-LP 的 A 值为  $1.11 \pm 0.40$ , 阴性组的 A 值  $0.5616 \pm 0.21$ , 经非配对 *t* 检验,  $P=0.012$ , 差异有统计学意义。

**2.5** 56 例慢性乙型肝炎患者抗病毒有效的两组(HBeAg 阳性组 40 例, HBeAg 阴性组 16 例)患者系列血清测定 HBV-LP 与 HBV DNA, 可见, HBV-LP 的 A 值与 HBV DNA 水平同步下降, 详见表 4。表 4 的 HBeAg 阳性组 HBV DNA 与 HBV-LP 值与 HBeAg 阴性组进行比较, 各组间的 *P* 值均大于 0.05,

两组间差异无统计学意义。

**2.6** 56 例干扰素治疗有效病例的 HBV-LP 和 HBV DNA 总体水平随用药时间的延长而下降, 见图 2。图 2 显示, 56 例干扰素治疗有效病例的 HBV-LP 和 HBV DNA 随用药时间的变化曲线, HBV-LP 和 HBV DNA 同时下降, 可以看出两者有很好的相关性,  $P=0.0232$ ,  $r^2=0.8603$ 。

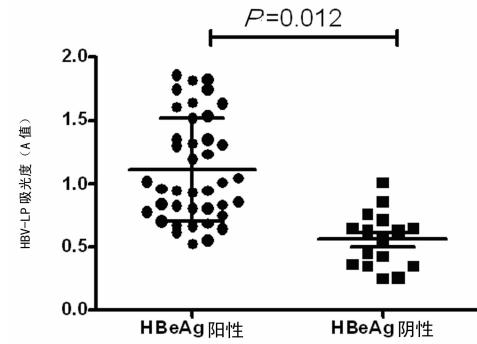


图 1 HBeAg 阳性组与 HBeAg 阴性组中 HBV-LP 的 A 值比较

表 4 HBeAg 阳性组 40 例与 HBeAg 阴性组 16 例治疗过程中 HBV DNA 和 HBV-LP 变化

月份	HBeAg 阳性		HBeAg 阴性	
	HBV DNA (对数值)	HBV-LP (A 值)	HBV DNA (对数值)	HBV-LP (A 值)
0	$7.23 \pm 2.21$	$1.28 \pm 0.16$	$5.81 \pm 1.48$	$0.78 \pm 0.20$
3	$5.32 \pm 2.61$	$0.82 \pm 0.21$	$3.11 \pm 1.68$	$0.56 \pm 0.31$
6	$4.01 \pm 2.01$	$0.62 \pm 0.15$	$2.96 \pm 2.01$	$0.41 \pm 0.26$
9	$3.12 \pm 2.17$	$0.35 \pm 0.16$	$2.56 \pm 1.43$	$0.31 \pm 0.14$
12	$2.01 \pm 1.01$	$0.15 \pm 0.09$	$2.01 \pm 1.52$	$0.21 \pm 0.10$

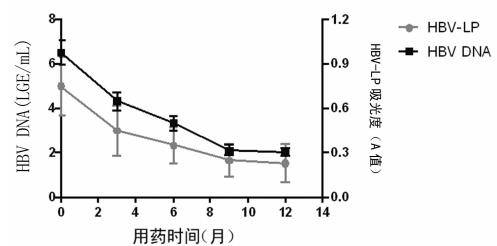


图 2 HBV-LP 和 HBV DNA 总体水平与用药时间比较

### 3 讨 论

HBV 基因组可编码 2 个转录激活因子, HBxAg 和 HBV-LP, 2 个蛋白都可以诱导 c-Raf-1/MEK 激酶级联通路, 检测病毒的反式激活因子对于预示乙型肝炎病情反复具有重要的意义, 但是 HBxAg 量很低, 无法测定, 而 HBV-LP 是唯一可以在血液中测定的病毒激活因子, 可反式激活病毒继续复制<sup>[5]</sup>, 因此, 测定 HBV-LP 有着重要的意义。

在慢性乙型肝炎中, HBV DNA 和 HBeAg 是病毒复制的证据, 也是观察抗病毒疗效的重要标志, 但随着抗病毒治疗的时间延长, 越来越多的耐药病毒株出现, 以及慢性乙型肝炎患者中的前核心和核心启动子区域的变异可能存在 HBeAg 负

性波动,所以很难确定 HBeAg 阴性与 HBV 复制水平的相关性,因此抗病毒疗效采用 HBeAg 作为指标,并不是最理想的<sup>[6]</sup>。

本实验测定 56 例抗病毒治疗有效的乙型肝炎患者血清的 HBV-LP 与 HBV DNA 拷贝数,两者间存在良好的正相关( $r=0.94$ ),HBeAg 阳性组与 HBeAg 阴性组均具有 HBV-LP 与 HBV DNA 的高阳性率,两组的  $P>0.05$ ,差异无统计学意义,因此,HBeAg 阴性患者的机体内仍有病毒的复制,与国内外文献报道的一致<sup>[7-9]</sup>。

本研究选择 56 例抗病毒治疗有效的系列血清,分 HBeAg 阳性组及阴性组,同时测定 HBV-LP 和 HBV DNA,可见,HBV-LP 的 A 值与 HBV DNA 同步下降。HBV-LP 本身具有反式激活病毒再复制作用,即能反映 HBeAg 阳性慢性乙型肝炎患者体内 HBV DNA 复制的情况,也可以反映 HBeAg 阴性病毒复制的情况,因此,检测 HBV-LP 有利于对 HBV DNA 复制情况的评估,以及进行治疗时的疗效评估,表明 HBV-LP 是抗病毒治疗疗效判定较好指标。

## 参考文献

- [1] 谢冬英,林炳亮,徐启桓,等.基线 HBeAg 水平对 HBeAg 阳性慢性乙型肝炎阿德福韦酯治疗 52 周疗效的预测价值[J].中华临床医师杂志,2010,4(8):1251-1255.

(上接第 1555 页)

敏感<sup>[10]</sup>,可考虑替换。

本文选择已获得罗氏药敏鉴定的耐 LFX 的 MTB 菌株作为检测对象便于观察对照,因选例有限,结果难免有偏差,有待大样本数据完善结论。从前景看,如果痰标本前处理得当,应用基因检测及 MODS 技术能对涂片阳性标本直接进行 LFX 敏感性检测,但 MODS 技术更有可能成为快速、便捷、实用的 MTB 菌株 LFX 耐药性检测新方法。

## 参考文献

- [1] 崔振玲,王洁,陆俊梅,等.结核分枝杆菌临床分离株对三种氟喹诺酮类药物敏感性分析研究[J].中华临床医师杂志,2009,12(3):1-4.
- [2] 中国防痨协会基础专业委员会.结核病诊断实验室检验规程[M].北京:中国教育文化出版社,2006:46-49.
- [3] 付佑辉,郑瑞娟,王洁,等.显微镜观察药物敏感度检测技术在二线抗结核药耐药性检测中应用[J].中华检验医学杂志,2010,33(1):25-29.
- [4] 彭卫生,王英年,肖成志.新编结核病学[M].北京:中国医药科技出版社,2003:463-465.
- [5] Alangaden GJ, Manavathu EK, Vakulenko SB, et al. Characterization of fluoroquinolone-resistant mutant strains of *Mycobacterium tuberculosis* selected in the laboratory and isolated from patients[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 1995, 39(8): 1700-1703.
- [6] Pasca MR, Guglierame P, Arcesi F, et al. Rv2686c-Rv2687-Rv2688c, an ABC fluoroquinolone efflux pump in *Mycobacterium tuberculosis*[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2004, 48(8): 3175-3178.
- [7] Caviedes L, Lee TS, Gilman RH, et al. Rapid, efficient detection and drug susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* in sputum by microscopic observation of broth cultures[J]. *Clin Microbiol*, 2000, 38(3): 1203-1208.
- [8] Shiferaw G, Woldeamanuel Y, Gebeyehu M, et al. Evaluation of microscopic observation drug susceptibility assay for detection of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*[J]. *J Clin Microbiol*, 2007, 45(4): 1093-1097.
- [9] 金文国,郑瑞娟,王洁,等.显微镜观察药物敏感性试验检测结核杆菌的耐药性[J].中华预防医学杂志,2009,43(1):24-27.
- [10] 李国利,陈澎,孙昌文,等.结核分枝杆菌对左氧氟沙星与莫西沙星的交叉耐药性及 gyrA 和 gyrB 基因突变分析[J].中国防痨杂志,2010,32(10):616-621.

(收稿日期:2011-12-25)

(收稿日期:2012-02-01)